J Korean Soc Food Sci Nutr
46(6), 695～702(2017)

한국식품영양과학회지
https://doi.org/10.3746/jkfn.2017.46.6.695

블루베리 농축식초 제조 및 이들의 항산화 및 항균 활성

오현화[1] · 장소원[1] · 전현일[1] · 정도연[2] · 김영수[1] · 송근섭[1]

[1]전북대학교 식품공학과
[2](재)발효미생물산업진흥원

Production of Concentrated Blueberry Vinegar Using Blueberry Juice and Its Antioxidant and Antimicrobial Activities

Hyeonhwa Oh[1], Sowon Jang[1], Hyun-Il Jun[1], Do-Youn Jeong[2], Young-Soo Kim[1], and Geun-Seoup Song[1]

[1]Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University
[2]Microbial Institute for Fermentation Industry (MIFI)

ABSTRACT This study was carried out to investigate the effects of seed vinegar on antioxidant activity and antimicrobial activities of concentrated blueberry vinegar (CBV). Of the nine strains of yeast and six strains of acetic acid bacteria provided by the Microbial Institute for Fermentation Industry, each strain of yeast (*Saccharomyces cerevisiae* SRCM 100610, showing the highest ethanol content) and acetic acid bacteria (*Acetobacter pasteurianus* SRCM 101342, showing the highest total acidity) was selected for production of CBVs. Sugar content, pH, total acidity, total phenolic content (TPC), and browning intensity (280 nm and 420 nm) in CBVs using concentrated blueberry juice were 11.05～12.70°Brix, 2.63～2.98, 1.65～5.72%, 3.03～4.24 mg/mL, 0.95～1.50, and 0.11～0.20, respectively. Sugar content and total acidity of CBVs increased upon addition of seed vinegar, whereas pH, TPC, and browning intensity decreased. Of all CBVs with various additions of seed vinegar, the control showed the lowest EC_{50} values in DPPH radical scavenging assay, ABTS radical scavenging assay, and reducing power (23.80, 19.48, and 79.21 dilution factor, respectively), whereas the 40% seed vinegar group showed the highest clear zone diameter values for *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Bacillus cereus* (4.31, 4.59, 5.81, and 3.97, respectively). Antioxidant activities of CBVs were closely correlated with their TPC, browning intensity at 280 nm, pH, and total acidity values, showing correlation determination coefficient (R^2) values higher 0.82. However, antimicrobial activities of CBVs were closely correlated with their pH and total acidity values, showing higher R^2 values more than 0.92. These results suggest that CBVs using concentrated blueberry juice, *S. cerevisiae* SRCM 100610, and *A. pasteurianus* SRCM 101342 may be useful as potentially functional foods for enhancing health.

Key words: concentrated blueberry vinegar, total phenolic content, food-borne pathogens, antioxidant activities, antimicrobial activities

서 론

블루베리(blueberry)는 진달래과(Ericaceae) 산앵두나무속(*Vaccinium*)에 속하는 관목성 식물이며 국내에서 주로 재배되는 하이부시베리(*Vaccinium corymbosum*)는 과실이 단단하고 산미가 적고 단맛이 강해 상업적인 가치가 높은 품종이다(1). 현재 블루베리는 기능성이 알려짐과 동시에 소비자의 관심이 증가하면서 와인, 막걸리, 양갱, 젤리, 잼, 머핀, 떡 등의 다양한 식품의 가공원료로 활용되고 있다(2,3). 블루베리는 당, 유기산, 비타민이 풍부할 뿐만 아니라 gallic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, ellagic acid, catechin, flavonol, anthocyanin, proanthocyanidin 등과 같은 생리활성을 갖는 페놀성 화합물을 다량 함유하고 있어 항산화, 항염증, 항암 등의 다양한 생리활성이 있다고 알려져 있다(4-7).

국내 건강기능식품(2015년)의 시장규모는 전년보다 16.2%가 증가한 2조 3,291억 원이었으며 그중에서도 면역이나 항노화와 관련성이 높은 제품군이 79.5% 이상으로 판매되었다(8). 이는 노화에 영향을 주는 체내 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 함량을 줄이는 데 효과적인 식품소재나 이를 활용한 건강기능성 식품에 관심이 높은 국내 고령화 사회의 상황이 반영된 결과로 판단된다(9). 기존에는 생리활성 물질을 얻기 위해서는 메탄올, 에탄올, 열수 등의 용매

Received 27 February 2017; Accepted 25 May 2017
Corresponding author: Geun-Seoup Song, Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonju, Jeonbuk 54896, Korea
E-mail: Songgs@jbnu.ac.kr, Phone: +82-63-270-2568

추출법이 많이 활용되었으나, 최근에는 천연 식품소재의 생리활성을 증가시키기 위해 발효, 가열, 건조 등 다양한 가공방법이 많이 사용된다(10,11).

최근에 식초의 건강기능성이 알려지면서 부재료를 첨가하지 않고 100% 과실로 제조하는 천연 양조식초 수요의 증가로 식초시장은 보다 고급화되고 다양화되고 있다(12). 대표적인 고급 양조식초로는 포도 착즙액을 끓인 후에 효모와 초산균을 활용한 장기간의 발효와 숙성과정을 통해서 제조되는 발사믹 식초가 있으며, 다른 식초보다 강력한 항산화 활성을 갖는 이 고점성의 식초는 독특한 향미와 풍미로 인하여 소비자에게 건강기능식품으로 인식되어 있다(13). 발사믹 식초 제조법을 응용한 고품질 블루베리 농축식초 제조에 국내산 균주(효모와 초산균)뿐만 아니라 국내산 블루베리까지 활용한다면 새로운 형태의 건강기능성 식품의 원천 기술을 확보할 수 있으나 아직 블루베리 농축식초에 관한 연구는 미비한 상황이다(10). 이에 본 연구에서는 블루베리를 건강기능식품으로 활용하기 위한 기초자료를 얻고자 블루베리의 발효에 적합한 효모와 초산균을 선정하여 블루베리 농축식초를 제조한 후에 이들의 이화학적 특성, 항산화 활성 및 항균 활성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료, 균주 및 시약

본 연구에 사용한 블루베리 착즙액은 고창태후식품 영농조합법인에서 2016년 8월에 제조한 트루블루베리 원액 100 (10.2°Brix, pH 3.03, total acidity 0.68%)을, 종초(seed vinegar) 제조에 사용된 와인은 순창복분자 영농조합에서 2016년 3월에 제조한 순창블루베리와인(14.8°Brix, pH 2.17, total acidity 0.45%, ethanol 12%)을 사용하였다.

본 연구에 사용된 균주는 에탄올 생성능이 우수한 효모(*Saccharomyces cerevisiae*) 9종(SRCM 100585, SRCM 100586, SRCM 100588, SRCM 100589, SRCM 100590, SRCM 100591, SRCM 100609, SRCM 100610, SRCM 100611)과 acetic acid 생성능이 우수한 초산균(*Acetobacter pasteurianus*) 6종(SRCM 101339, SRCM 101340, SRCM 101341, SRCM 101342, SRCM 101343, SRCM 101344)을 (재)발효미생물산업진흥원(Microbial Institute for Fermentation Industry(MIFI), Sunchang, Korea)에서 분양받아 사용하였다. 한편 항균 활성에 사용된 식중독 유발세균은 그람양성(*Bacillus cereus* KACC 10097, *Staphylococcus aureus* KACC 1927, *Listeria monocytogenes* KACC 10764) 3종과 그람음성(*Escherichia coli* KACC 10115) 1종을 한국농업미생물자원센터(Korean Agricultural Culture Collection(KACC), Jeonju, Korea)에서 분양받아 사용하였다.

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS), ascorbic acid, pyrogallol, gallic acid, Folin-Ciocalteu's reagent 등은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서, PDB(potato dextrose broth), NB(nutrient broth), NA (nutrient agar) 등은 Difco Co.(Sparks, MD, USA)에서 구입하였으며, 그 밖의 시약들은 analytical 및 HPLC grade를 사용하였다.

균주 선정

효모(*S. cerevisiae*)는 1단계(전 배양, pre-culture)로 PDB (potato starch 0.4%, dextrose 20%) 3 mL에 효모 1 백금이를 접종하여 진탕배양(28°C, 180 rpm, 2일) 및 정치배양(28°C, 3일) 하였다. 2단계(본 배양, main culture)로 전 배양액 1 mL를 블루베리 착즙액 100 mL에 접종하여 진탕배양(28°C, 150 rpm, 2일) 및 정치배양(28°C, 3일) 하였다. 블루베리 착즙액의 에탄올 발효에 적합한 효모는 배양액의 당도, pH, 총산도 및 에탄올 함량을 측정하여 선정하였다.

초산균(*A. pasteurianus*)은 1단계로 균주를 GYCE(glucose 5%, yeast extract 1%, $CaCO_3$ 3%, ethanol 3%, agar 2.5%)에서 활성화시킨 후에 GYE(glucose 5%, yeast extract 1%, ethanol 6%) 3 mL에 초산균 1 백금이를 접종하여 진탕배양(28°C, 180 rpm, 5일) 하였다. 2단계로 전 배양액 1 mL를 에탄올 6%로 조절된 혼합액(블루베리 착즙액과 순창블루베리와인을 1:1 혼합) 100 mL에 접종하여 진탕배양(28°C, 150 rpm, 10일) 하였다. 블루베리 착즙액의 acetic acid 발효에 적합한 초산균은 배양액의 당도, pH 및 총산도를 측정하여 선정하였다.

블루베리 농축액 및 블루베리 농축식초 제조

블루베리 농축액은 블루베리 착즙액의 당도가 27°Brix가 되도록 교반 가열(80°C, 150 rpm, 3시간)하여 제조하였다.

주모는 선정된 효모 전 배양액 6 mL를 블루베리 농축액 600 mL에 접종한 후에 본 배양하여 에탄올 함량이 약 11%가 되도록 제조하였다.

종초는 선정된 초산균 전 배양액을 원심분리(4°C, 5,000 rpm, 15분) 하여 얻은 pellet에 블루베리 착즙액을 첨가하였다. 초산균을 접종한 블루베리 착즙액 50 mL에 순창블루베리와인 50 mL를 혼합하여 진탕배양(28°C, 150 rpm, 5일) 하여 제조하였다. 이때 원심분리 한 pellet에 0.1 M PBS buffer(pH 7.4)을 첨가하여 수세한 후에 이를 원심분리(4°C, 5,000 rpm, 15분) 하여 buffer를 제거하였다. Pellet에 블루베리 착즙액을 재첨가한 후에 이를 수분건조법(14)으로 초산균의 균체량을 측정하였으며, 초산균을 접종한 블루베리 착즙액과 순창블루베리와인 혼합액의 에탄올 함량과 초산균 균체량은 각각 6%와 1 mg/mL였다.

블루베리 농축식초는 블루베리 농축액에 종초를 각각 0~40 mL씩 첨가하여 총 부피가 100 mL가 되도록 조절한 후에 진탕배양(28°C, 150 rpm, 10일) 하여 블루베리 농축식초 완제품으로 하였으며, 이들의 발효 특성, 항산화 활성 및

항균 활성을 측정하여 블루베리 농축식초 제조에 적합한 종초량을 파악해보고자 하였다. 한편 블루베리 농축식초의 발효 특성은 원 시료를, 블루베리 농축식초의 항산화 및 항균 활성은 원심분리(4°C, 13,000 rpm, 10분) 하여 얻은 상등액을 분석시료로 사용하였다.

이화학적 특성 측정

pH는 pH meter(SevenMulti, Mettler Toledo GmBH, Giessen, Germany)를 사용하여 측정하였으며, 총산도는 시료 1 mL에 0.1 N NaOH를 첨가하여 pH 8.3에 도달할 때까지 소모된 양을 acetic acid 함량으로 산출하였다.

당도는 당도계(PAL-1, Atago Co., Ltd., Tokyo, Japan)로 측정하였고, 에탄올은 시료 50 mL를 수증기로 증류하여 얻은 증류액 50 mL를 주정계(PET-109, Atago Co., Ltd.)를 이용하여 측정하였다.

항산화 성분 측정

갈변도는 DuBois 등(15)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료를 석영 cell에 넣은 후에 분광광도계(UV-1650PC, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 280 nm와 420 nm에서 흡광도를 측정하였고 대조구로는 증류수를 사용하였다.

총 페놀성 화합물 함량(total phenolic content, TPC)은 ISO 14502-1(16)의 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 1 mL에 10% Folin-Ciocalteu's phenol reagent 5 mL를 첨가하여 3분간 반응시킨 후에 7.5% Na_2CO_3 4 mL를 첨가하였다. 이 반응액을 암소에서 반응(23°C, 1시간)시킨 후에 765 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 총 페놀성 화합물 함량은 gallic acid를 표준물질로 하여 시료 mL당 mg gallic acid로 나타내었다. 정량 분석에 사용된 검량 회귀식은 $Y=0.0101X+0.0234(R^2=0.99)$로 gallic acid 농도별 흡광도 값의 결과에서 산출하여 나타내었다.

항산화 활성 측정

DPPH 라디칼 검정은 Kano 등(17)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 100 μL에 100 μM DPPH용액 2 mL를 첨가하여 암소에서 20분간 반응시킨 후에 515 nm에서 흡광도를 측정하였으며 대조구로는 ascorbic acid를 사용하였다. DPPH 라디칼의 흡광도를 50% 감소시키는 데 필요한 시료의 희석배율(the half maximal effective concentration, EC_{50}, dilution factor)은 다음의 식에 의하여 얻어진 결과에서 산출하여 나타내었다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \frac{\text{Absorbance}_{\text{control}} - \text{Absorbance}_{\text{sample}}}{\text{Absorbance}_{\text{control}}} \times 100$$

ABTS 라디칼 검정은 Re 등(18)의 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 30 μL에 ABTS 라디칼 용액 3 mL를 첨가하여 암소에서 6분간 반응시킨 후에 734 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조구로는 ascorbic acid를 사용하였다. ABTS 라디칼의 흡광도를 50% 감소시키는 데 필요한 시료의 희석배율(EC_{50})는 다음의 식에 의하여 얻어진 결과에서 산출하여 나타내었다.

$$\text{ABTS radical cation scavenging activity (\%)} = \frac{\text{Absorbance}_{\text{control}} - \text{Absorbance}_{\text{sample}}}{\text{Absorbance}_{\text{control}}} \times 100$$

SOD 유사 활성은 Li(19)의 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 300 μL에 1 mM EDTA를 함유한 50 mM tris-HCl buffer(pH 7.4, 37°C) 2,650 μL와 1 mM HCl에 녹인 60 mM pyrogallol 50 μL를 첨가하여 반응(37°C, 15분)시킨 후에 325 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조구로는 ascorbic acid를 사용하였다. Pyrogallol의 흡광도를 50% 감소시키는 데 필요한 시료의 희석배율(EC_{50})는 다음의 식에 의하여 얻어진 결과에서 산출하여 나타내었다.

$$\text{SOD like activity (\%)} = \frac{\text{Absorbance}_{\text{control}} - \text{Absorbance}_{\text{sample}}}{\text{Absorbance}_{\text{control}}} \times 100$$

환원력은 Oyaizu(20)의 방법을 이용하였다. 시료 1 mL에 0.2 M phosphate buffer(pH 6.6) 2.5 mL와 1% $K_3Fe(CN)_6$ 2.5 mL를 첨가하여 50°C에서 20분간 반응시켰다. 이 반응액에 10% trichloroacetic acid 2.5 mL를 첨가하여 원심분리(3,000 rpm, 10분) 한 후에 상등액을 취하였다. 이 상등액 5 mL에 증류수 5 mL와 0.1% $FeCl_3$ 1 mL를 첨가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조구로는 ascorbic acid를 사용하였다. 환원력은 시료액 첨가구와 무첨가구의 흡광도의 차이로 나타내었으며 반응액의 흡광도가 0.5가 되는 데 필요한 시료의 희석배율(EC_{50})은 얻어진 결과에서 산출하여 나타내었다.

항균 활성 측정

항균 활성은 paper disc diffusion assay(21)를 이용하였다. 계대 배양된 각 식중독 유발 세균 1 백금이를 NB 10 mL에 접종하여 진탕배양(37°C, 200 rpm, 18시간) 한 후에 멸균된 면봉을 사용하여 NA에 도말하였다. 각 균이 도말된 NA의 표면에 6 mm paper disc(ADVANTEC, Tokyo, Japan)를 올려놓고 그 위에 시료를 20 μL 점적하여 정치배양(37°C, 18시간) 한 후에 paper disc 주위로 형성된 clear zone을 측정하였다. 항균 활성은 paper disc diameter당 clear zone diameter 비율로 산출하였다.

통계분석

각 실험은 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 SPSS package program(Ver. 12.0K, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었다. 각 시료 간의 유의성

은 $P<0.05$ 수준에서 one-way ANOVA로 분산분석 한 후에 Duncan's multiple range test로 비교하였으며, 블루베리 농축식초의 이화학적 특성과 항산화 및 항균 활성의 연관성은 Pearson 상관분석을 이용한 단순회귀분석(simple regression analysis)을 실시하여 비교하였다.

결과 및 고찰

블루베리 농축식초 제조를 위한 효모와 초산균의 선정

블루베리 착즙액의 에탄올 발효 및 6% 에탄올로 조절된 혼합액(블루베리 착즙액과 순창블루베리와인을 1:1 혼합)의 acetic acid 발효에 대한 이화학적 특성은 Table 1과 같다. 블루베리 착즙액에 9종의 효모를 접종하고 5일간 발효하여 분석한 이화학적 특성은 당도가 4.20~4.33°Brix, pH가 2.86~2.88, 총산도가 0.60~0.75% 및 에탄올 함량이 3.65~4.10%였다. 당도와 pH는 유의적 차이를 나타내지 않았으나 총산도는 *S. cerevisiae* SRCM 100585가, 에탄올 함량은 *S. cerevisiae* SRCM 100610이 가장 높게 나타났다. 이와 같은 결과는 블루베리 착즙액에 *S. cerevisiae* M-5로 5일간 발효하면 pH는 3% 미만이고 총산도는 1% 미만이라는 결과(22)와 유사하였다. 효모의 에탄올 발효 시 효모에 따라 발효에 차이가 있다는 결과(23)와도 유사했으며, 이는 효모에 따라서 블루베리에 함유된 영양원의 이용도가 다르기 때문으로 판단된다.

에탄올 6%로 조절된 혼합액에 6종의 초산균을 접종하고 10일간 발효하여 분석한 이화학적 특성은 당도가 11.83~12.07°Brix, pH가 2.64~3.00, 총산도가 0.69~4.24%였다. 당도는 유의적 차이를 나타내지 않았으나, *A. pasteurianus* SRCM 101342가 pH는 가장 낮고 총산도는 가장 높게 나타났다. 발효시간은 제품의 단가를 높이는 요인이므로 에탄올 발효 및 acetic acid 발효가 최대한 빠르게 진행되어야 하므로 블루베리 농축식초의 주모용 효모와 종초용 초산균은 *S. cerevisiae* SRCM 100610과 *A. pasteurianus* SRCM 101342가 선정되었다.

블루베리 농축식초의 이화학적 특성

선정된 효모(*S. cerevisiae* SRCM 100610), 초산균(*A. pasteurianus* SRCM 101342) 및 블루베리 농축액을 활용하여 제조한 블루베리 농축식초의 이화학적 특성은 Table 2와 같다. 블루베리 농축식초의 당도는 종초 첨가량이 증가할수록 초기(0일)에는 13.30°Brix에서 12.75°Brix로 감소하였으나 말기(10일)에는 오히려 11.05°Brix에서 12.70°Brix로 증가하여 종초 첨가량에 따른 일정한 경향을 보이지 않았다. 한편 발효 전후의 당도는 control(종초 무첨가구)이 2.25°Brix, 종초 40% 첨가구가 0.05°Brix 감소하여 종초 첨가량이 증가할수록 당도의 감소 폭이 줄어들었다. 이는 종초와 블루베리 농축액에 함유된 각각의 당도와 당의 조성비 차이가 발효과정을 거치면서 영향을 준 것으로 판단된다. 이때 당도는 블루베리 농축식초의 함유된 유리당만이 아닌 유기산, 유리아미노산 등과 같은 다른 가용성 고형분(soluble solids)을 모두 포함한다.

블루베리 농축식초의 pH는 종초 첨가량이 증가할수록 초기에는 2.93에서 2.83으로 0.1이 감소, 말기에는 2.98에서 2.63으로 0.35가 감소하였으나, 총산도는 초기에 1.82%에서 2.18%로 0.36%가 증가, 말기에는 1.65%에서 5.72%로 4.07%가 증가하여 pH와 반대되는 경향을 보였다. 이와 같은 현상은 종초 첨가량이 많을수록 발효가 활발하여 종초에 함유된 초산균이 acetic acid를 많이 생성하기 때문으로 판

Table 1. Comparison of sugar content, pH, total acidity, and ethanol content in blueberry juice on alcohol and acetic acid fermentation with various microorganisms

Microorganism		Physicochemical property			
		Sugar content (°Brix)	pH	Total acidity (%)	Ethanol content (%)
Saccharomyces cerevisiae	SRCM 100585	4.23±0.04[a1)2)]	2.88±0.00[a]	0.75±0.04[d]	3.75±0.07[ab]
	SRCM 100586	4.23±0.04[a]	2.87±0.00[a]	0.63±0.04[ab]	3.75±0.07[ab]
	SRCM 100588	4.30±0.14[a]	2.88±0.01[a]	0.66±0.04[abc]	3.70±0.00[ab]
	SRCM 100589	4.25±0.07[a]	2.87±0.01[a]	0.72±0.04[cd]	3.80±0.00[ab]
	SRCM 100590	4.20±0.14[a]	2.87±0.02[a]	0.72±0.00[cd]	3.65±0.07[a]
	SRCM 100591	4.30±0.00[a]	2.88±0.01[a]	0.60±0.00[a]	3.70±0.00[ab]
	SRCM 100609	4.30±0.14[a]	2.88±0.00[a]	0.69±0.04[bcd]	3.75±0.07[ab]
	SRCM 100610	4.33±0.04[a]	2.86±0.00[a]	0.70±0.02[bcd]	4.10±0.14[c]
	SRCM 100611	4.33±0.04[a]	2.88±0.01[a]	0.66±0.00[abc]	3.85±0.07[b]
Acetobacter pasteurianus	SRCM 101339	11.93±0.06[a]	2.95±0.02[b]	1.04±0.01[a]	
	SRCM 101340	11.83±0.15[a]	2.94±0.02[b]	1.22±0.01[a]	
	SRCM 101341	11.83±0.15[a]	2.98±0.02[b]	0.93±0.03[a]	
	SRCM 101342	12.07±0.29[a]	2.64±0.01[a]	4.24±0.03[b]	
	SRCM 101343	11.87±0.21[a]	3.00±0.04[b]	0.69±0.02[a]	
	SRCM 101344	12.00±0.36[a]	2.73±0.19[a]	3.18±1.98[b]	

[1)]Values are mean±SD (n=3).
[2)]Different letters in the same column indicate a significant difference according to Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

Table 2. Comparison of sugar content, pH, and total acidity in concentrated blueberry vinegar on fermentation time with selected yeast and acetic acid bacteria

Concentrated blueberry vinegar		Fermentation time (day)		
		0	5	10
Sugar content (°Brix)	Control	13.30±0.00$^{cB1)-3)}$	11.30±0.00^{bA}	11.05±0.21^{aA}
	10% seed vinegar	13.25±0.07^{cB}	11.15±0.07^{aA}	11.00±0.00^{aA}
	20% seed vinegar	13.00±0.00^{bB}	12.10±0.00^{cA}	12.15±0.07^{bA}
	30% seed vinegar	13.05±0.07^{bB}	12.45±0.07^{dA}	12.60±0.00^{cA}
	40% seed vinegar	12.75±0.07^{aB}	12.60±0.00^{eA}	12.70±0.00^{cAB}
pH	Control	2.93±0.01^{cA}	3.00±0.01^{eB}	2.98±0.01^{eB}
	10% seed vinegar	2.91±0.00^{cA}	2.94±0.01^{dA}	2.92±0.02^{dA}
	20% seed vinegar	2.87±0.01^{bB}	2.87±0.00^{cB}	2.80±0.01^{cA}
	30% seed vinegar	2.86±0.00^{bC}	2.82±0.01^{bB}	2.71±0.01^{bA}
	40% seed vinegar	2.83±0.01^{aC}	2.77±0.01^{aB}	2.63±0.00^{aA}
Total acidity (%)	Control	1.82±0.02^{aA}	1.80±0.08^{aA}	1.65±0.04^{aA}
	10% seed vinegar	1.79±0.02^{aA}	1.80±0.04^{aA}	2.04±0.08^{bB}
	20% seed vinegar	2.03±0.02^{bA}	2.90±0.02^{bB}	3.84±0.13^{cC}
	30% seed vinegar	2.06±0.02^{bA}	3.39±0.13^{cB}	5.11±0.13^{dC}
	40% seed vinegar	2.18±0.02^{cA}	3.83±0.15^{dB}	5.72±0.02^{eC}

1)Values are mean±SD (n=3).
2)Different small letters (a-d) in the same column indicate a significant difference according to Duncan's multiple range test (P<0.05).
3)Different capital letters (A-C) in the same row indicate a significant difference according to Duncan's multiple range test (P<0.05).

단된다. 한편 식초는 특유의 향을 가진 신맛의 액체로 초산균이 에탄올을 산화시켜 acetic acid를 생성하는데 acetic acid 발효가 완료된 시점에서 종초 30% 첨가구와 40% 첨가구만이 과실 양조식초의 품질기준인 총산도 4% 이상으로 나타났다(24).

블루베리 농축식초의 총 페놀성 화합물 함량 및 갈변도

블루베리 농축식초의 총 페놀성 화합물 함량 및 갈변도에 대한 결과는 Table 3과 같다. 블루베리 농축식초의 총 페놀성 화합물 함량은 3.03~4.24 mg/mL로 종초 첨가량이 증가할수록 총 페놀성 함량은 1.4배가 감소하여 블루베리 농축액이 종초보다 총 페놀성 함량이 많은 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 블루베리 착즙액의 총 페놀성 화합물 함량이 0.74 mg/mL라는 결과에 비추어 보면 농축과정 중에 수분의 증발로 블루베리 농축식초의 총 페놀성 화합물 함량이 상대적으로 증가한 것으로 판단된다(22). 블루베리에는 강한 항산화 활성을 가진 gallic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, ellagic acid, catechin, flavonol, anthocyanin, proanthocyanidin 등의 다양한 페놀성 화합물이 존재하고 있어서 항산화 활성은 control이 가장 높을 것으로 판단된다(5-7).

블루베리 농축식초의 갈변도는 280 nm에서는 0.95~1.50, 420 nm에서는 0.11~0.20으로 종초 첨가량이 증가할수록 측정파장에 관계없이 1.6배와 1.8배가 감소하여 블루베리 농축액이 종초보다 갈변물질을 많이 함유한 것으로 나타났으며 이는 총 페놀성 화합물 함량과 유사한 경향이었다. 이와 같은 결과는 교반 가열(80°C, 150 rpm, 3시간)하여 당도를 27°Brix로 높이는 블루베리 농축액 제조과정 중에 블루베리 착즙에는 존재하지 않던 furfural, hydroxymethylfurfural 등과 같은 갈변 중간생성물과 항산화 성분으로 알려진 고분자 melanoidin(갈변물질 또는 갈색색소)이 생성되었기 때문으로 판단된다(15). 이는 블루베리 착즙에 존재하는 유리당, 유리아미노산, 페놀성 화합물 등의 성분들이 고온의 열처리 과정 중에 Maillard 반응, Caramelization 반응, 페놀성 화합물 자동산화반응 등과 같은 비효소적 갈변반응이 일어나서 melanoidin으로 전환되기 때문으로 추정된다(25,26).

Table 3. Comparison of total phenolic content and browning intensity in concentrated blueberry vinegar

Concentrated blueberry vinegar	Total phenolic content (mg/mL)	Browning intensity	
		280 nm	420 nm
Control	4.24±0.04$^{e1)2)}$	1.50±0.00^{e}	0.20±0.00^{e}
10% seed vinegar	3.94±0.03^{d}	1.30±0.00^{d}	0.15±0.00^{d}
20% seed vinegar	3.83±0.03^{c}	1.22±0.00^{c}	0.14±0.00^{c}
30% seed vinegar	3.42±0.06^{b}	1.09±0.01^{b}	0.13±0.00^{b}
40% seed vinegar	3.03±0.05^{a}	0.95±0.00^{a}	0.11±0.00^{a}

1)Values are mean±SD (n=3).
2)Different letters in the same column indicate a significant difference according to Duncan's multiple range test (P<0.05).

Table 4. Comparison of antioxidant activity of concentrated blueberry vinegar with various additions of seed vinegar

Concentrated blueberry vinegar	EC_{50}[1)] value (dilution factor) of antioxidant activity			
	DPPH radical assay	ABTS radical assay	SOD like activity	Reducing power
Comparison[2)]	0.08±0.00[3)]	0.34±0.00	0.10±0.00	0.07±0.00
Control	23.80±0.49[e4)]	19.48±0.48[d]	12.75±0.71[a]	79.21±0.19[e]
10% seed vinegar	21.62±0.34[d]	17.79±0.44[c]	14.53±0.50[b]	77.65±0.39[d]
20% seed vinegar	18.57±0.57[c]	17.22±0.55[c]	34.17±0.00[c]	74.30±0.44[c]
30% seed vinegar	15.26±0.92[b]	15.37±1.05[b]	42.70±0.24[d]	66.10±0.67[b]
40% seed vinegar	11.43±1.06[a]	11.99±0.64[a]	46.19±0.95[e]	52.55±1.14[a]

[1)]EC_{50} value is expressed as the effective concentration at which antioxidant activity using DPPH radicals, ABTS radicals, and pyrogallols were scavenged by 50%; absorbance was 0.5 for reducing power.
[2)]Comparison is ascorbic acid (mg/mL) for DPPH radical assay, ABTS radical assay, SOD like activity, and reducing power.
[3)]Values are mean±SD (n=3).
[4)]Different letters in the same column indicate a significant difference according to Duncan's multiple range test (P<0.05).

블루베리 농축식초의 항산화 및 항균 활성

블루베리 농축식초의 항산화 활성에 대한 결과는 Table 4와 같다. 블루베리 농축식초 원액을 100배까지 희석하여 DPPH 라디칼 검정, ABTS 라디칼 검정, SOD 유사 활성 및 환원력에 관한 항산화 활성을 EC_{50} 값으로 산출한 결과 DPPH 라디칼 검정은 11.43~23.80배의 희석배율, ABTS 라디칼 검정은 11.99~19.48배의 희석배율 및 환원력은 52.55~79.21배의 희석배율로 종초 첨가량이 증가할수록 EC_{50} 값이 각각 2.1배, 1.6배 및 1.5배가 감소하였다. 이와 같은 결과는 종초 첨가량이 증가할수록 총 페놀성 화합물 함량과 갈변물질의 함량이 감소하기 때문으로 판단되며, 이는 페놀성 화합물의 phenolic hydroxyl group과 갈변반응으로 생성된 melanoidin이 가진 강한 환원성이 라디칼을 소거하거나 과산화물을 제거하는 항산화 활성을 갖기 때문이다(27,28). 한편 control은 DPPH 라디칼 검정과 환원력에서 항산화 활성이 높다고 알려진 비교구(ascorbic acid)의 0.08 mg/mL와 0.07 mg/mL에 해당하는 강한 항산화 활성을 보였다. 반면에 SOD 유사 활성은 12.75~46.19배의 희석배율로 오히려 종초 첨가량이 증가할수록 EC_{50} 값이 3.6배가 증가하였는데, 이는 SOD 유사 활성이 pyrogallol의 산화 정도를 측정하는 분석법인데 산성 용액에서 pyrogallol의 산화가 지연되는 특성이 있다(19). 따라서 SOD 유사 활성의 희석배율 증가는 블루베리 농축식초의 종초 첨가량이 증가할수록 총산도가 증가하기 때문으로 판단된다.

블루베리 농축식초의 식중독 유발 세균에 대한 항균 활성 결과는 Table 5와 같다. 블루베리 농축식초의 clear zone diameter 값은 *E. coli* KACC 10115에서는 1.96~4.31, *S. aureus* KACC 1927에서는 2.89~4.59, *L. monocytogenes* KACC 10764에서 3.71~5.81, *B. cereus* KACC 10097에서는 2.74~3.97로 식중독 유발 세균에 상관없이 종초 첨가량이 증가할수록 각각 2.20배, 1.49배, 1.57배 및 1.45배가 증가하여 총산도와 유사한 경향이었다. 이와 같은 결과는 감식초와 현미식초가 *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* 등에 강한 항균 활성을 보였다는 결과와 유사하였으며, 이는 식초에 존재하는 acetic acid의 항균 활성이 높기 때문이다(29). 한편 블루베리 농축식초는 대체로 그람양성균인 *L. monocytogenes* KACC 10764와 *S. aureus* KACC 1927에 대한 항균 활성이 높은 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 현미발효 흑초가 *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes* 등의 식중독 유발세균에 대하여 항균 활성을 나타냈다는 결과(30)와 유사하였다. 반면에 종초 첨가에 따른 유의적 증가를 보인 총산도와 달리 항균 활성은 종초 20% 첨가구부터 유의적 차이를 나타내었다.

블루베리 농축식초의 이화학적 특성과 항산화 및 항균 활성의 상관성

블루베리 농축식초의 이화학적 특성과 항산화 및 항균 활성의 연관성을 Pearson 상관분석으로 살펴본 결과(Table 6), 항산화 활성에서는 총 페놀성 화합물 함량, 갈변도(at 280 nm), pH 및 총산도의 결정계수(correlation determi-

Table 5. Comparison of antimicrobial activity value of concentrated blueberry vinegar with various additions of seed vinegar

Food-borne pathogen		Clear zone diameter ratio[1)] value				
		Control	10% seed vinegar	20% seed vinegar	30% seed vinegar	40% seed vinegar
Escherichia coli	KACC 10115	1.96±0.05[a2)3)]	2.22±0.09[a]	3.55±0.02[b]	4.01±0.21[bc]	4.31±0.44[c]
Staphylococcus aureus	KACC 1927	3.08±0.32[a]	2.89±0.05[a]	4.00±0.00[b]	4.33±0.14[bc]	4.59±0.18[c]
Listeria monocytogenes	KACC 10764	3.71±0.19[a]	3.86±0.20[a]	4.86±0.20[b]	5.84±0.43[c]	5.81±0.27[c]
Bacillus cereus	KACC 10097	2.74±0.17[a]	2.74±0.17[a]	3.34±0.07[b]	3.78±0.09[bc]	3.97±0.37[c]

[1)]Clear zone diameter ratio value is expressed as clear zone diameter (mm) / paper disc diameter (mm).
[2)]Values are mean±SD (n=3).
[3)]Different letters in the same row indicate a significant difference according to Duncan's multiple range test (P<0.05).

Table 6. Regression analysis for biological activity between each EC_{50} and/or clear zone diameter ratio and each compound in concentrated blueberry vinegar

Components	Regression analysis[1)] for EC_{50}[2)] value of each antioxidant assay			
	DPPH radical assay	ABTS radical assay	SOD like activity	Reducing power
Antioxidant activity	$Y_1=10.36X_1-20.10$, $R^2=0.98$	$Y_1=5.99X_1-5.73$, $R^2=0.98$	$Y_1=-30.11X_1+141.22$, $R^2=0.83$	$Y_1=22.56X_1-13.34$, $R^2=0.94$
	$Y_1=23.23X_2-10.02$, $R^2=0.96$	$Y_1=13.18X_2+0.40$, $R^2=0.93$	$Y_1=-69.36X_2+114.13$, $R^2=0.86$	$Y_1=48.24X_2+11.49$, $R^2=0.84$
	$Y_1=133.77X_3-1.39$, $R^2=0.83$	$Y_1=75.71X_3+5.32$, $R^2=0.79$	$Y_1=-399.21X_3+88.35$, $R^2=0.74$	$Y_1=263.88X_3+31.44$, $R^2=0.65$
	$Y_1=33.98X_4-77.27$, $R^2=0.99$	$Y_1=18.75X_4-36.27$, $R^2=0.90$	$Y_1=-106.13X_4+328.07$, $R^2=0.96$	$Y_1=70.61X_4+128.32$, $R^2=0.86$
	$Y_1=-2.68X_5+27.97$, $R^2=0.96$	$Y_1=-1.45X_5+21.68$, $R^2=0.84$	$Y_1=8.61X_5-1.53$, $R^2=0.99$	$Y_1=-5.50X_5+90.16$, $R^2=0.82$
Components	Regression analysis for clear zone diameter ratio[3)] value of each food-borne pathogen			
	E. coli (KACC10115)	*S. aureus* (KACC1927)	*L. monocytogenes* (KACC10764)	*B. cereus* (KACC10097)
Antimicrobial activity	$Y_2=-2.05X_1+10.77$, $R^2=0.83$	$Y_2=-1.41X_1+8.99$, $R^2=0.78$	$Y_2=-1.99X_1+12.15$, $R^2=0.84$	$Y_2=-1.14X_1+7.51$, $R^2=0.88$
	$Y_2=-4.76X_2+8.98$, $R^2=0.88$	$Y_2=-3.20X_2+7.65$, $R^2=0.78$	$Y_2=-4.52X_2+10.29$, $R^2=0.85$	$Y_2=-2.55X_2+6.40$, $R^2=0.87$
	$Y_2=-27.85X_3+7.28$, $R^2=0.78$	$Y_2=-17.84X_3+6.38$, $R^2=0.63$	$Y_2=-25.660X_3+8.56$, $R^2=0.71$	$Y_2=-12.07X_3+5.02$, $R^2=0.55$
	$Y_2=-7.22X_4+23.49$, $R^2=0.97$	$Y_2=-5.03X_4+17.90$, $R^2=0.92$	$Y_2=-6.89X_4+24.16$, $R^2=0.95$	$Y_2=-3.90X_4+14.27$, $R^2=0.97$
	$Y_2=0.58X_5+1.07$, $R^2=0.98$	$Y_2=0.41X_5+2.27$, $R^2=0.96$	$Y_2=0.56X_5+2.76$, $R^2=0.98$	$Y_2=0.33X_5+2.16$, $R^2=0.99$

[1)]X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, Y_1, Y_2, and R^2 are total phenolic content, browning intensity at 280 nm, browning intensity at 420 nm, pH, total acidity, each EC_{50} value of antioxidant activity, each clear zone diameter ratio value of each food-bone pathogen, and correlation determination coefficient, respectively.
[2)]EC_{50} value is expressed as the effective concentration at which antioxidant activity using DPPH radicals, ABTS radicals, and pyrogallols were scavenged by 50%; absorbance was 0.5 for reducing power.
[3)]Clear zone diameter ratio value is expressed as clear zone diameter (mm) / paper disc diameter (mm).

nation coefficient, R^2) 값이 0.82~0.99를, 항균 활성에서는 pH와 총산도의 R^2 값만 0.92~0.99를 나타내어 강한 상관성을 보였다. 한편 회귀분석의 기울기 값을 비교해 보면 항산화 활성에서는 SOD 유사 활성을 제외하고 총 페놀성 화합물(5.99~22.56), 갈변도(280 nm에서 13.18~48.24, 420 nm에서 75.71~263.88) 및 pH(18.75~70.61)가 양의 값을, 항균 활성에서는 총산도만 0.33~0.56으로 양의 값을 나타내었다. 회귀분석의 기울기는 분석 요인 값이 증가함에 따라 분석된 활성이 증가하면 정의 관계(양의 값)를, 감소하면 부의 관계(음의 값)를 나타내며, 기울기 그 자체는 정도의 차이를 의미한다고 알려져 있다(31). 블루베리 농축식초의 항산화 활성은 총 페놀성 화합물 함량 및 갈변도, 항균 활성은 pH 및 총산도와 같이 유기산과 관련성이 높은 것으로 나타났으며, 이는 블루베리 농축식초의 종초 첨가량에 따른 이화학적 특성이 반영된 것으로 판단된다. 이와 같은 결과는 항산화 성분의 종류와 특성에 따라 라디칼 소거능이나 금속이온 환원력이 변하기 때문으로 판단된다(32).

요 약

본 연구에서는 다양한 생리활성을 가졌다고 알려진 블루베리의 식품산업 이용률을 높이고자 블루베리 농축식초를 제조하였으며, 종초가 블루베리 농축식초의 이화학적 특성, 항산화 활성 및 항균 활성에 미치는 영향을 조사하였다. 선정된 주모용 효모(*Saccharomyces cerevisiae* SRCM 100610), 종초용 초산균(*Acetobacter pasteurianus* SRCM 101342) 및 블루베리 농축액을 활용하여 제조한 블루베리 농축식초의 당도, pH, 총산도, 총 페놀성 화합물, 갈변도(280 nm과 420 nm)는 각각 11.05~12.70°Brix, 2.63~2.98, 1.65~5.72%, 3.03~4.24 mg/mL, 0.95~1.50 및 0.11~0.20이었으며, 종초 첨가량이 증가할수록 당도와 총산도는 증가하였으나 pH, 총 페놀성 화합물 및 갈변도는 감소하였다. 항산화 활성은 DPPH 라디칼 검정, ABTS 라디칼 검정 및 환원력에서는 control이 가장 낮은 EC_{50} 값(23.80, 19.48 및 79.21배의 희석배율)을 보였으나 SOD 유사 활성에서는 종초 40% 첨가구가 가장 낮은 EC_{50} 값(46.19배의 희석배율)을 나타내었다. 항균 활성은 종초 40% 첨가구의 clear zone diameter 값이 *Escherichia coli* KACC 10115에서는 4.31, *Staphylococcus aureus* KACC 1927에서는 4.59, *Listeria monocytogenes* KACC 10764에서는 5.81 및 *Bacillus cereus* KACC 10097에서는 3.97로 가장 높게 나타났다. 한편 항산화 활성은 총 페놀성 화합물 함량, 갈변도(at 280 nm), pH 및 총산도의 결정계수(R^2) 값이 0.82~0.99를, 항균 활성에서는 pH와 총산도의 R^2 값이 0.92~0.99 이상의 높은 값을 나타내어 강한 상관성을 보였다. 결과적으로 선정된 주모용 효모, 종초용 초산균 및 블루베리 농축액을 활용하여 제조한 블루베리 농축식초는 건강 기능성 식품으로의 가능성이 있다고 판단된다.

감사의 글

본 논문은 농림수산식품부 지역 전략 식품산업 육성사업(과제명: 동부권 고기능 토종발효미생물과 향토자원을 이용한 발효제품 개발 및 기능성, 분석, 과제번호: MIFI 2016-1)의 연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Kim TC, Bae KS, Kim IK, Chun HJ. 2005. Antioxidative activities of solvent extracts from blueberry. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 19: 179-183.
2. Lee HR, Jung BR, Park JY, Hwang IW, Kim SK, Choi JU, Lee SH, Chung SK. 2008. Antioxidant activity and total phenolic contents of grape juice products in the Korean market. *Korean J Food Preserv* 15: 445-449.
3. Lee JG, Lee BY. 2007. Effect of media composition on growth and rooting of highbush blueberry cuttings. *Kor J Hort Sci Technol* 25: 355-359.
4. Moon HK, Lee SW, Kim JK. 2013. Physicochemical and quality characteristics of the Korean and American blueberries. *Korean J Food Preserv* 20: 524-531.
5. Basu A, Rhone M, Lyons TJ. 2010. Berries: emerging impact on cardiovascular health. *Nutr Rev* 68: 168-177.
6. Naczk M, Shahidi F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J Pharm Biomed Anal* 41: 1523-1542.
7. Kalt W, Ryan DA, Duy JC, Prior RL, Ehlenfeldt MK, Vander Kloet SP. 2001. Interspecific variation in anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity among genotypes of highbush and lowbush blueberries (*Vaccinium section cyanococcus* spp.). *J Agric Food Chem* 49: 4761-4767.
8. KMFDS. 2016. *Analysis report for annual production of functional food in 2016*. Korean Ministry of Food and Drug Safety, Seoul, Korea. p 1-12.
9. Son CG. 2014. Progress of functional food market in Korea and strategy of Korean medicine. *J Korean Med* 35: 68-74.
10. Jun HI, Park SY, Jeong DY, Song GS, Kim YS. 2014. Quality properties of yogurt added with hot water concentrates from *Allium hookeri* root. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 1415-1422.
11. Jang JY, Lee J, Choi EJ, Choi HJ, Oh YJ, Lee SH, Kim HJ. 2015. Effect of starter cultures on the antioxidant activities of *Allium hookeri* root-hot water extract. *Korean J Food Cook Sci* 31: 98-102.
12. Mo HW, Jung YH, Jeong JS, Choi KH, Choi SW, Park CS, Choi MA, Kim ML, Kim MS. 2013. Quality characteristics of vinegar fermented using Omija. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 441-449.
13. Masino F, Chinnici F, Bendini A, Montevecchi G, Antonelli A. 2008. A study on relationships among chemical, physical, and qualitative assessment in traditional balsamic vinegar. *Food Chem* 106: 90-95.
14. AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. p 1121-1180.
15. DuBois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 28: 350-356.
16. ISO 14502-1. 2005. Determination of substances characteristic of green and black tea－Part 1: Content of total polyphenols in tea－Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
17. Kano M, Takayanagi T, Harada K, Makino K, Ishikawa F. 2005. Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoera batatas* cultivar Ayamurasaki. *Biosci Biotechnol Biochem* 69: 979-988.
18. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
19. Li X. 2012. Improved pyrogallol autoxidation method: a reliable and cheap superoxide-scavenging assay suitable for all antioxidants. *J Agric Food Chem* 60: 6418-6424.
20. Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reaction-antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jap J Nutr* 44: 307-315.
21. Sohn HY, Ryu HY, Jang Y, Jang HS, Park YM, Kim SY. 2008. Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of aerial part of *Saxifraga stolonifera*. *Kor J Microbiol Biotechnol* 36: 195-200.
22. Yoon HH, Chae KS, Son RH, Jung JH. 2015. Antioxidant activity and fermentation characteristics of blueberry wine using traditional yeast. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 840-846.
23. Mo HW, Jeong JS, Choi SW, Choi KH. 2012. Preparation of wine using wild yeast from dried Omija and optimal nutritional requirements for alcoholic fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 254-260.
24. Korea Foods Industry Association. 2002. *Food Code*. Seoul, Korea. p 32.
25. Lee GS, Nam KY, Choi JE. 2013. Ginsenoside composition and quality characteristics of red ginseng extracts prepared with different extracting methods. *Korean J Med Crop Sci* 21: 276-281.
26. Lertittikul W, Benjakul S, Tanaka M. 2007. Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-glucose model system as influenced by pH. *Food Chem* 100: 669-677.
27. Jacobo-Velázquez DA, Cisneros-Zevallos L. 2009. Correlations of antioxidant activity against phenolic content revisited: a new approach in data analysis for food and medicinal plants. *J Food Sci* 74: R107-R113.
28. Lee MJ, Kim HD, Park JW, Kim DS. 1992. Comparison of the antioxidant activity of melanoidin with commercial antioxidants and their synergistic effects. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 686-692.
29. Woo SM, Jang SY, Kim OM, Youn KS, Jeong YJ. 2004. Antimicrobial effects of vinegar on the harmful food-born organisms. *Korean J Food Preserv* 11: 117-121.
30. Choi H, Gwak G, Choi D, Park J, Cheong H. 2015. Antimicrobial efficacy of fermented dark vinegar from unpolished rice. *Microbiol Biotechnol Lett* 43: 97-104.
31. Jun HI, Jang HN, Yang JH, Song GS, Kim YS. 2015. Physicochemical properties and antioxidant activities of steam-dried *Allium hookeri* root. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 412-417.
32. Jun HI, Kim YA, Kim YS. 2014. Antioxidant activities of *Rubus coreanus* Miquel and *Morus alba* L. fruits. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 381-388.